

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1921

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Marthe van GEERTRUYDEN-BERNARD

De la Faculté de Médecine de Paris

Externe des Hôpitaux de Paris

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE

L'ACTION DE L'HIRUDINE

SUR

LES ACCIDENTS ANAPHYLACTIQUES

Président : M. CHAUFFARD, professeur.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

45, rue Racine, 15

1921

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

LE DOYEN : M. ROGER
ASSESEUR : G. POUCHET

PROFESSEURS

	MM
Anatomie.	NICOLAS
Anatomie médico-chirurgicale	CUNEO
Physiologie.	CH. RICHET
Physique médicale	ANDRÉ BROCA
Chimie organique et Chimie générale	DESGREZ
Bactériologie	BEZANÇON
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BRUMPT
Pathologie et Thérapeutique générales.	MARCEL LABBÉ
Pathologie médicale	RENON
Pathologie chirurgicale.	LECENE
Anatomie pathologique.	LETULLE
Histologie.	PRENANT
Opérations et appareils.	PIERRE DUVAL
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET
Thérapeutique	CARNOT
Hygiène	BERNARD
Médecine légale.	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENETRIER
Pathologie expérimentale et comparée.	ROGER
Clinique médicale.	ACHARD
	WIDAL
	GILBERT
	CHAUFFARD
Hygiène et clinique de la 1 ^{re} enfance	MARFAN
Clinique des maladies des enfants.	NOBECOURT
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	DUPRÉ
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	JEANSELME
Clinique des maladies du système nerveux.	PIERRE MARIE
Clinique des maladies contagieuses	TEISSIER
Clinique chirurgicale	DELBET
	GOSSET
	LEJARS
	HARTMANN
Clinique ophtalmologique	DE LAPPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires.	LEGUEU
Clinique d'accouchements	BAR
	COUVELAIRE
	BRINDEAU
Clinique gynécologique.	J.-L. FAURE
Clinique chirurgicale infantile	AUGUSTE BROCA
Clinique thérapeutique.	VAQUEZ
Clinique d'Oto-rhino-laryngologie.	SEBILEAU

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.			
ABRAMI	DUVOIR	LARDENNOIS	RATHERY
ALGLAVE	FISSINGER	LELORIER	RETTERER
BASSET	GARNIER	LEMIERRE	RIBIERRE
BAUDOUIN	GOUGEROT	LEQUEUX	RICHAUD
BLANCHETIERE	GREGOIRE	LEREBoullet	ROUSSY
BRANCA	GUENIOT	LERI	ROUVIERE
CAMUS	GUILLEMIN	LEVY-SOLAL	SCHWARTZ(A.)
CHAMPY	GUILEMINOT	MATHIEU	TANON
CHEVASSU	HEITZ-BOYER	METZGER	TERRIEN
CHIRAY	JOYEUX	MOCQUOT	TIFFENEAU
CLERC	LABBÉ HENRI	MULON	VILLARET
DEBRE	LAIGNEL-LAVASTINE	OKINCZYC	
DESMAREST	LANGLOIS	PHILIBERT	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR A. CHAUFFARD

Professeur de clinique médicale à la Faculté de Paris

Membre de l'Académie de Médecine

Commandeur de la Légion d'honneur

*Hommage de ma reconnaissance
et de mon respectueux attachement.*

A M. le DOCTEUR E. ZUNZ

Chargé de cours à l'Université libre de Bruxelles
Membre de l'Académie Royale de Médecine de Belgique

En témoignage de ma reconnaissance pour la bienveillance qu'il m'a témoignée au cours de ce travail.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE
L'ACTION DE L'HIRUDINE
SUR
LES ACCIDENTS ANAPHYLACTIQUES

INTRODUCTION

On sait depuis les travaux d'Arthus (1909) qu'il existe, au cours des accidents anaphylactiques, des troubles de la coagulation sanguine. Le sang recueilli pendant les accidents se coagule avec une extrême lenteur; extrait du cœur aussitôt après la mort par choc anaphylactique, il est incoagulable et ajouté à du sang normal, il retarde la coagulation de celui-ci (Modrakowski, 1912).

D'autre part, les plaquettes, qui jouent un rôle dans la coagulation du sang, semblent aussi intervenir dans les accidents anaphylactiques: elles disparaissent partiellement (Achard et Aynaud) au cours des accidents et formeraient des thrombi dans les capillaires pulmonaires.

De Waele (14-15-17) a tenté d'établir des rapports plus directs entre l'anaphylaxie et la coagulation

sanguine. L'anaphylaxie traduirait pour cet auteur un « état particulier d'équilibre colloïdal du fibrinogène » et le choc anaphylactique représenterait une « phase thromboplastique » consécutive à l'introduction de certaines substances dans le milieu sanguin.

On pouvait dès lors se demander si les corps qui empêchent la coagulation sanguine, n'auraient pas, sur le choc anaphylactique, un pouvoir empêchant ou du moins atténuant.

C'est à ce point de vue que nous avons étudié l'hirudine dans ce travail.

Bordet a montré en 1913 que l'adjonction, à du sérum frais de cobaye, d'une faible quantité de suspension d'agar, fait apparaître dans ce sérum des propriétés nouvelles : injecté dans les veines d'un cobaye neuf, il provoque à la première injection tous les symptômes du choc anaphylactique. De nombreux auteurs [Zunz, 22-24-29 Novy et de Kruif (9)] Nathan, Lœwit et Bayer (20), ont depuis lors repris ces expériences.

Nous avons recherché si l'hirudine atténuaient le choc produit chez le cobaye par le sérum traité selon la méthode de Bordet. Nous avons d'abord recherché l'action de l'hirudine *in vitro*, en l'ajoutant au sérum avant ou après traitement de celui-ci par l'agar ; nous avons en outre, étudié les effets du plasma hirudiné traité par l'agar et nous les avons comparés à ceux du plasma oxalaté.

Nous nous sommes ensuite préoccupé de l'action de l'hirudine *in vivo*, en faisant précéder d'une

injection intraveineuse d'hirudine l'injection de sérum ou de plasma, traité par l'agar.

Nous avons enfin étudié de même *in vitro* et *in vivo*, l'action de l'hirudine sur les accidents anaphylactiques vrais chez des animaux préparés avec du sérum de cheval.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE

1° Préparation du sérum traité par l'agar selon la méthode de Bordet. — a) Préparation de la suspension d'agar : à 100 centimètres cubes de solution chlorurée sodique à 9 0/00 on ajoute 0 gr. 5 d'agar coupé en morceaux et on porte à 115 degrés à l'autoclave. On obtient, par refroidissement, une masse molle. Celle-ci, agitée violemment, se transforme en une substance gélatineuse demi-liquide. Cette suspension est conservée en tubes scellés.

b) Récolte du sérum de cobaye : le sang de cobaye neuf est prélevé aseptiquement par saignée carotidienne ; après centrifugation, le sérum décanté est de suite mis en présence de la suspension d'agar.

c) Traitement du sérum par l'agar : à 5 parties de ce sérum frais on ajoute 1 partie de suspension d'agar ; on agite ; on place de suite à l'étuve à 37 degrés ce mélange, on l'y laisse pendant deux heures et demie à trois heures en secouant de temps à autre ; on centrifuge ensuite énergiquement ; l'agar se dépose sous forme d'un culot compact ; on décante le

liquide limpide surnageant en évitant d'entraîner l'agar.

2° **L'Hirudine** employée est celle de Sachsse et C^o; elle est conservée en tubes scellés ouverts au moment même de l'emploi. Elle se présente en paillettes brunes, très solubles dans l'eau, la solution physiologique et le sérum.

3° **Injection intraveineuse.** — Les cobayes injectés sont des cobayes neufs de 200 à 300 grammes. On injecte lentement (trente secondes au minimum) 3 à 5 centimètres cubes de sérum traité par l'agar dans la jugulaire de l'animal.

4° **Observation du cobaye.** — Avant de fixer l'animal sur l'appareil à contention, on le pèse, on prend sa température rectale, on compte ses respirations et ses pulsations cardiaques. Aussitôt l'injection terminée l'animal est remis en liberté. On l'observe durant trois heures au minimum. Au bout de dix, de trente et de soixante minutes, on compte les respirations et les pulsations cardiaques; on prend à nouveau la température rectale. En cas de mort, l'autopsie est pratiquée immédiatement; l'état des organes en place est noté, des pièces sont recueillies de suite dans une solution alcoolique de bichlorure de mercure pour examen histologique.

L'injection intraveineuse de 3 à 5 centimètres cubes de sérum traité par l'agar détermine chez le cobaye le tableau classique des accidents anaphylactiques : deux à trois minutes après l'injection, on observe de la toux, une dyspnée très prononcée, une

chute thermique, souvent une émission de matières fécales et d'urine, une chute de la pression sanguine. L'animal, agité de secousses violentes, se couche sur le flanc ; ces secousses convulsives durent deux à trois minutes, puis s'espacent, s'affaiblissent, quelques inspirations se produisent encore, puis l'animal succombe quatre à huit minutes après l'injection. Le cœur continue à battre longtemps après la cessation des mouvements respiratoires. A l'autopsie, les poumons dilatés enserrent le cœur et sont souvent ponctués de taches ecchymotiques. Il existe un retard très notable de la coagulation sanguine.

Dans toutes nos expériences, nous avons vérifié sur des cobayes témoins, la nocivité du sérum traité par l'agar. Tout sérum ne déterminant pas chez ceux-ci la mort en moins de huit minutes avec le tableau morbide ci-dessus a été rejeté.

CHAPITRE II

EFFET DE L'ADDITION « IN VITRO » D'HIRUDINE A DU SÉRUM OU A DU PLASMA TRAITÉ PAR L'AGAR

Dans une première série d'expériences, nous avons étudié l'action de l'hirudine ajouté au sérum après traitement de celui-ci par l'agar. Le sérum est préparé selon la méthode de Bordet, centrifugé, séparé de l'agar. On vérifie sa toxicité sur un cobaye témoin. On dissout l'hirudine en paillettes dans le sérum toxique ; puis on laisse s'écouler des temps variables avant d'injecter ce sérum hirudiné à des cobayes neufs de 200 à 300 grammes.

Dans une deuxième série d'expériences, l'hirudine est dissoute dans le sérum avant traitement de celui-ci par l'agar. Immédiatement après séparation du caillot, le sérum de cobaye est divisé en deux parties : l'une traitée par l'agar servira à vérifier sur le cobaye témoin la toxicité de ce sérum ; l'autre est d'abord additionnée d'hirudine, puis traitée par l'agar. On a soin de se servir du même tube d'agar pour traiter les deux sérums, et ces deux sérums sont mis à l'étuve et retirés simultanément.

Dans une troisième série d'expériences, on prépare du plasma hirudiné de cobaye. Le sang est recueilli dans un tube contenant l'hirudine en paillettes. Pendant la récolte le tube est agité afin d'éviter la coagulation. Après centrifugation, le plasma décanté est traité par l'agar comme il a été dit pour le sérum.

On a employé une dose d'hirudine équivalente à la dose nécessaire pour empêcher la coagulation du sang, soit :

1° Pour la préparation du plasma hirudiné : 0 gr. 002 d'hirudine pour 15 centimètres cubes de sang ;

2° Pour le sérum hirudiné 0 gr. 002 d'hirudine pour 7 centimètres cubes de sérum correspondant environ à 15 centimètres cubes de sang.

A la suite de l'injection intraveineuse d'un tel sérum ou plasma, nous avons observé chez le cobaye des réactions diverses représentant des formes atténuées du choc anaphylactique.

1° **Réaction nulle** : aucune manifestation morbide n'est observée chez le cobaye pendant les deux heures consécutives à l'injection : ni chute thermique, ni dyspnée, ni malaise ; l'animal est apparemment semblable aux cobayes neufs.

2° **Réaction légère** : huit ou dix minutes après l'injection, un léger état de malaise apparaît chez le cobaye injecté : les poils se hérissent, l'animal se ramasse sur lui-même en boule ; une légère dyspnée apparaît : de 90 ou 100 la respiration passe à 120-

130. On observe souvent des frissonnements légers, parfois une chute thermique pouvant atteindre 2 degrés. Au bout d'une heure, l'animal est complètement rétabli et ne se distingue plus des cobayes neufs.

3° Réaction forte : on observe les mêmes symptômes mais beaucoup plus accentués : après une période latente de huit à dix minutes, l'animal se blottit dans un coin, l'aspect inquiet et fatigué ; à intervalles réguliers, de trente à soixante secondes, il est secoué de grands frissons. La dyspnée est intense ; parfois le cobaye pousse de petits cris plaintifs. Une abondante émission de selles à lieu pendant les quinze premières minutes, accompagnées souvent d'émission d'urine. Au bout d'un quart d'heure, la chute thermique atteint fréquemment 3 ou 4 degrés, la température de l'animal pouvant descendre jusqu'à 33 degrés. Cependant au bout d'une heure, ces symptômes s'amendent : les frissons moins violents s'espacent, la dyspnée s'atténue, la température rectale remonte lentement. Le plus souvent trois heures après l'injection l'animal ne se distingue plus des cobayes sains. Il est exceptionnel de voir la réaction se prolonger pendant cinq heures.

4° Réaction très violente : moins de cinq minutes après l'injection, apparaissent de la toux, des secousses convulsives, un état d'angoisse. Le cobaye se couche sur le flanc, dyspnéique, agité de convulsions intenses. L'émission de selles et d'urine est rare. Cet état dure deux ou trois minutes, et l'on

craint la mort imminente. Mais, moins de dix minutes après l'injection, l'animal se redresse, les convulsions cessent, le cobaye présente alors les symptômes d'une réaction forte : grands frissons, dyspnée, angoisse, chute thermique de 3 à 4 degrés. En une demi-heure, l'animal est souvent complètement rétabli.

5° **La mort** survient parfois en moins de huit minutes après les symptômes analogues à ceux présentés par les cobayes témoins.

RÉSULTATS :

1° *Résultats obtenus lorsque l'hirudine est ajoutée au sérum après traitement de celui-ci par l'agar, et séparation de l'agar.*

Ces résultats diffèrent suivant le laps de temps écoulé entre la dissolution de l'hirudine dans le sérum et l'injection de ce sérum au cobaye.

a) Lorsque la dissolution de l'hirudine précède de moins d'une heure l'injection intraveineuse, les effets toxiques de l'injection sont rarement et peu atténués.

Sur 12 cobayes injectés, 5 meurent en moins de huit minutes, 3 ont une réaction très violente, 2 une réaction forte, 2 une réaction légère (tableau I).

b) Lorsque la dissolution de l'hirudine dans le sérum précède de trois heures ou davantage l'injection, l'atténuation des effets nocifs est constante et très intense.

9 cobayes reçoivent du sérum additionné d'hiru-

TABLEAU I

N° du cobaye	Laps de temps écoulé entre la dissolution de l'hirudine dans le sérum, et l'injection	Réactions
22	5 minutes	mort
26	5 —	mort
25	5 —	forte
42	5 —	forte
11	10 —	mort
27	15 —	mort
21	15 —	très violente
20	15 —	légère
23	15 —	légère
18	40 —	mort
13	1 heure	très violente
27	1 —	très violente

dine trois à vingt-cinq heures auparavant. Tandis que les témoins meurent en moins de huit minutes, aucun de ces cobayes ne meurt, aucun ne présente de réaction très violente ou forte. 7 ont une légère réaction ; chez 2, la réaction est nulle (tableau 2).

TABLEAU II

N° du cobaye	Laps de temps écoulé entre la dissolution de l'hirudine dans le sérum et l'injection	Réactions
14	3 heures	légère
38	3 —	légère
43	3 —	légère
12	4 —	légère
44	18 —	légère
24	18 —	nulle
37	20 —	nulle
107	25 —	légère
114 bis	25 —	légère

L'atténuation des effets nocifs du sérum semble donc toujours exister trois heures après l'adjonction d'hirudine, et demeurer constante et intense, durant vingt-cinq heures. Nos recherches n'ont pas porté sur un temps plus long, mais on peut se demander si cette atténuation ne persiste pas aussi longtemps que la nocivité du sérum traité par l'agar.

L'atténuation de toxicité du sérum est bien liée à la présence d'hirudine. En effet, le sérum non additionné d'hirudine conserve toute sa toxicité même vingt-cinq heures après avoir été débarrassé de l'agar : 8 cobayes reçoivent du sérum séparé de l'agar depuis un laps de temps variant de trois à vingt-cinq heures ; 4 meurent et 4 ont des réactions très violentes (tableau 3).

TABLEAU III

N° du cobaye	Laps de temps compris entre la séparation de l'agar et l'injection	Réactions
104	3 heures	mort
32	3 —	très violente
39	3 —	»
33	18 —	mort
29	18 —	très violente
30	18 —	»
102	25 —	mort
113 bis	25 —	»

En tenant compte des variations des réactions individuelles des cobayes, on peut donc dire que le sérum traité par l'agar ne perd pas sa nocivité par

le seul vieillissement. Fréquemment au cours de ces expériences, un même sérum a été, après décantation de l'agar, divisé en deux parties : l'une a été additionné d'hirudine, l'autre non. Par conséquent un même sérum, conservé le même temps et dans les mêmes conditions après séparation de l'agar, puis injecté simultanément à divers cobayes, détermine des réactions très différentes suivant qu'il est ou n'est pas additionné d'hirudine : non additionné d'hirudine, il cause encore la mort vingt-cinq heures après séparation de l'agar ; par contre, il ne détermine plus qu'une réaction légère ou nulle trois heures après l'adjonction de 0 gr. 002 d'hirudine pour 7 centimètres cubes de sérum et vingt-cinq heures après cette adjonction la nocivité du sérum n'a pas encore reparu.

2° Résultats obtenus lorsque l'hirudine est ajoutée au sérum avant traitement de celui-ci par l'agar. — Dans ces expériences, il s'écoule nécessairement trois heures au minimum entre la dissolution de l'hirudine dans le sérum et l'injection au cobaye ; le traitement du sérum par l'agar, puis le séjour à l'étuve nécessitent, en effet, trois heures environ.

Le laps de temps écoulé entre la dissolution de l'hirudine dans le sérum et l'injection intraveineuse, a varié de trois à vingt-deux heures.

L'atténuation des effets toxiques du sérum s'est montrée constante et forte comme lorsque l'hirudine est ajoutée au sérum après traitement par l'agar.

Sur 8 cobayes injectés, 5 ont une réaction légère ; chez 2 la réaction est nulle ; 1 seul présente une réaction très violente (tableau 4). Cependant le témoin meurt en moins de huit minutes.

TABLEAU IV

N° du cobaye	Laps de temps écoulé entre la dissolution de l'hirudine dans le sérum et l'injection	Réactions
34	3 heures	légère
38 bis	3 —	—
9	3 — 1/2	—
10	3 — 1/2	—
39	20 — 1/2	—
5	20 — 1/2	nulle
6	20 — 1/2	»
35	22 — 1/2	très violente

3° *Résultats obtenus avec le plasma hirudiné traité par l'agar.* — De même que précédemment, il s'écoule nécessairement trois heures au moins entre l'adjonction d'hirudine au sang et l'injection intraveineuse (manipulations et temps d'étuve).

L'action nocive du plasma est atténuée constamment et fortement (tout comme celle du sérum) par la présence de l'hirudine :

4 cobayes reçoivent du plasma hirudiné ;

3 présentent une réaction légère ;

Chez un cobaye la réaction est nulle (1).

1. Le temps séparant la récolte du sang de l'injection intraveineuse n'a pas été noté exactement. Nous savons seulement qu'il était supérieur à trois heures et inférieur à vingt-quatre heures.

Nous avons eu soin de vérifier que le traitement par l'agar selon la méthode de Bordet, rendait le plasma nocif, tout comme le sérum.

En effet, le plasma oxalaté à 1/1000 n'est pas toxique pour le cobaye; ce même plasma traité par l'agar détermine chez 3 cobayes sur 4, la mort en cinq minutes avec tous les symptômes du choc anaphylactique; le quatrième cobaye présente une réaction très violente (tableau 5).

TABLEAU V

N° du cobaye	Nature du liquide injecté	Réactions
15	Plasma oxalaté.	nulle
91	—	—
92	Plasma oxalaté traité p. l'agar.	mort
93	—	—
117	—	—
16	—	très violente

De ces trois séries d'expériences on peut conclure que l'adjonction d'hirudine au sérum ou au plasma traité par l'agar, atténue fortement l'action nocive d'un tel sérum ou plasma sur le cobaye; mais pour que cette atténuation existe il semble nécessaire que la dissolution de l'hirudine dans le plasma ou le sérum précède de plus d'une heure l'injection intraveineuse. Peut-être s'agit-il là d'une action de contact. Il est en tout cas intéressant de remarquer que non seulement le sérum ou le plasma renfermant de

l'hirudine n'acquière pas d'action nocive par contact avec l'agar, mais que du sérum tuant le cobaye en moins de huit minutes, perd son action toxique, si pendant trois heures il a contenu de l'hirudine en dissolution.

Les expériences faites avec le plasma hirudiné et le plasma oxalaté nous montrent d'autre part que les divers anticoagulants n'atténuent pas tous les effets toxiques du plasma traité par l'agar. Tandis que le plasma hirudiné n'acquiert pas de propriétés nocives par contact de l'agar, le plasma oxalaté au contraire devient³fortement toxique pour le cobaye. On peut dès lors se demander si d'autres anticoagulants n'auraient pas une action analogue à celle de l'hirudine.

CHAPITRE III

ACTION « IN VIVO » DE L'HIRUDINE SUR LES ACCIDENTS TOXIQUES DUS AU SÉRUM OU AU PLASMA TRAITÉS PAR L'AGAR

Pour étudier *in vivo* l'action de l'hirudine nous avons fait précéder l'injection intraveineuse de sérum traité par l'agar, par une injection intraveineuse d'hirudine.

L'hirudine est dissoute dans 1 ou 2 centimètres cubes de solution physiologique de NaCl à 90/00. L'injection est poussée lentement dans la jugulaire du cobaye. L'animal est alors délié, observé, laissé en liberté, puis au bout d'un temps variable il reçoit l'injection de sérum. La toxicité du sérum a toujours été contrôlée sur un cobaye témoin.

La dose d'hirudine injectée correspond à la dose minima nécessaire pour empêcher la coagulation de tout le sang du cobaye. Pour un cobaye de 200 à 300 grammes dont la masse sanguine est d'environ 15 centimètres cubes on injecte 0 gr. 002 à 0 gr. 004 d'hirudine. Ces doses d'hirudine n'ont jamais provoqué chez nos cobayes aucun accident. Mais si

l'on injecte des doses plus fortes : 0 gr. 01, 0 gr. 02, 0 gr. 03 (doses employées par Lœwit (19) dans ses recherches sur la pression sanguine au cours de l'anaphylaxie) : on observe très fréquemment un affaiblissement progressif entraînant la mort après trois à cinq heures. La température rectale s'abaisse progressivement de 3, 4, 5 et même 7°. L'animal a l'aspect fatigué, ses pattes le portent de plus en plus difficilement ; peu à peu il se couche sur le flanc, puis meurt sans autres accidents. Contrairement à Doers et Moldavan, nous n'avons jamais observé les symptômes du choc anaphylactique entraînant la mort en moins de huit minutes : nous n'avons noté ni dyspnée, ni toux, ni secousses convulsives, ni émissions de selles ou d'urine. La survie a été au minimum de trois heures (tableau 6).

TABLEAU VI

N° du cobaye	Poids du cobaye	Dose d'hirudine injectée	Durée de la survie
108	245 gr.	0 gr. 01	survie définitive
109	250 —	0 — 01	5 heures
113	327 —	0 — 015	survie définitive
111	245 —	0 — 02	3 heures
116	265 —	0 — 02	5 heures
115	245 —	0 — 02	survie définitive
96	295 —	0 — 03	3 heures

Lorsque l'animal survit on note cependant une chute thermique progressive pendant les trois pre-

mières heures (2 à 4°) ; cet abaissement thermique disparaît au bout de cinq à six heures ; l'animal est alors parfaitement rétabli.

En résumé, l'injection intraveineuse d'hirudine ne gêne point la constatation des accidents dus au sérum traité par l'agar. Les fortes doses (1) qui affaiblissent l'animal et le rendent peut-être moins résistant, ne déterminent en tout cas pas le choc anaphylactique.

RÉSULTATS

Le pouvoir atténuant *in vivo* de l'hirudine sur les effets toxiques du sérum traité par l'agar varie suivant le temps écoulé entre l'injection d'hirudine et l'injection de sérum :

a) L'hirudine, injectée moins d'une heure avant le sérum traité par l'agar, atténue très rarement les effets nocifs de l'injection de sérum.

Neuf cobayes reçoivent de l'hirudine ; au bout de temps variant entre cinq et soixante minutes, on leur injecte du sérum traité par l'agar : 5 meurent en moins de dix minutes avec tous les symptômes du choc anaphylactique ; 1 a une réaction légère ; chez 1 la réaction est nulle (tableau 5).

Notons que les doses d'hirudine employées ne semblent pas faire varier le résultat des expériences.

1. Ces fortes doses ont été d'ailleurs employées et titre tout à fait exceptionnel.

TABLEAU VII

N° du cobaye	Dose d'hirudine injectée	Temps écoulé entre l'inject.d'hirudine et l'inject. de sérum traité par l'agar.	Réactions
68	0 gr. 004	5 minutes	mort
66	0 — 004	5 —	légère
70	0 — 002	10 —	mort en 4 min.
74	0 — 004	10 —	mort en 8 min.
77	0 — 004	15 —	mort en 10 m.
108	0 — 030	15 —	mort en 5 min.
78	0 — 002	60 —	mort en 8 min.
99	0 — 030	60 —	mort en 5 min.
73	0 — 002	60 —	nulle

b) Au contraire, si l'injection d'hirudine précède de plus d'une heure l'injection de sérum, l'atténuation des effets toxiques de celle-ci semble constante et le plus souvent forte.

Quatorze cobayes reçoivent de l'hirudine ; on leur injecte du sérum traité par l'agar après avoir laissé s'écouler un laps de temps variant entre une heure et demie et vingt-huit heures.

Tandis que le sérum a toujours tué les cobayes témoins n'ayant pas reçu d'hirudine, sur ces quatorze cobayes un seul meurt, quatre présentent des réactions très violentes, six des réactions légères, trois n'ont eu aucune réaction (tableau 8).

c) Les résultats obtenus avec du plasma oxalaté traité par l'agar au lieu de sérum sont absolument analogues. Tandis que le cobaye témoin recevant 3 centimètres cubes de plasma oxalaté à 1/1.000, traité par l'agar, meurt en cinq minutes avec tous les

TABLEAU VIII

N° du cobaye	Dose d'hirudine injectée	Temps écoulé entre l'inject. d'hirudine et l'inject. de sérum traité par l'agar.	Réactions
100	0 gr. 004	1 heure 1/2	légère
74	0 — 002	3 heures	—
79	0 — 002	3 —	très violente
71	0 — 002	3 — 1/2	nulle
86	0 — 004	4 —	légère
87	0 — 004	44 —	très violente
90	0 — 004	4 —	nulle
89	0 — 004	6 —	—
97	0 — 004	6 —	très violente
95	0 — 004	8 —	légère
101	0 — 004	18 —	—
85	0 — 004	24 —	mort en 8 min.
83	0 — 004	28 —	légère
84	0 — 004	28 —	très violente

symptômes du choc anaphylactique, 2 cobayes, injectés quatre heures auparavant avec 0 gr. 004 d'hirudine, peuvent recevoir la même dose du même plasma sans présenter aucun accident grave (tableau 9).

TABLEAU IX

N° du cobaye	Dose d'hirudine	Temps écoulé entre l'in- jection d'hirudine et l'in- jection de plasma	Réactions
117	0 — témoin	—	mort
117 bis	0 gr. 004	4 heures	légère
118	0 gr. 004	4 heures 1/2	nulle

Donc, lorsque l'injection de sérum ou de plasma toxique est précédée d'une injection intraveineuse

d'hirudine, l'action tonique du sérum ou du plasma est presque constamment atténuée s'il s'écoule plus d'une heure entre les deux injections.

Nous n'avons pu établir si cette action atténuante de l'hirudine était liée à des modifications des éléments du sang (plaquettes ou sérum) ou si elle était la conséquence de modifications survenues chez l'animal injecté.

Rien ne nous permet d'établir jusqu'à présent un rapport quelconque entre les propriétés anticoagulantes de l'hirudine et son pouvoir d'atténuer les effets toxiques du sérum traité par l'agar. Nous avons constaté à plusieurs reprises, que les temps de coagulation sanguine sont les mêmes chez des cobayes témoins neufs, et chez des cobayes ayant reçu plus d'une heure auparavant, 0 gr. 004 d'hirudine dans les veines : Ainsi au cours d'une expérience, on prend le temps de coagulation de trois cobayes avant l'injection de sérum toxique : Le cobaye 91, témoin, meurt en cinq minutes : son sang coagulait en treize minutes (1). Le cobaye 90, ayant reçu 0 gr. 004 d'hirudine quatre heures auparavant, a une réaction très légère : son sang coagulait en onze minutes. Le cobaye 89 ayant reçu 0 gr. 004 d'hirudine six heures auparavant, n'a aucune réaction ; son sang coagulait en treize minutes.

1. Le temps de coagulation a été mesuré par le procédé sur lame.

CHAPITRE IV

ACTION DE L'HIRUDINE SUR LES ACCIDENTS ANAPHYLACTIQUES CONSÉCUTIFS A L'INJEC- TION DE SÉRUM DE CHEVAL CHEZ DES COBAYES SENSIBILISÉS PAR CE SÉRUM.

Nous étions amenés naturellement à étudier de la même manière l'action de l'hirudine *in vivo* et *in vitro* dans les accidents anaphylactiques causés par une injection déchainante de sérum de cheval chez des cobayes préparés avec ce même sérum.

De Waele rapporte que Loewit aurait déjà remarqué au cours de ses expériences que les doses de sérum de cheval nécessaires pour provoquer le choc et la mort chez des cobayes préparés, seraient plus fortes si le cobaye a reçu préalablement 0 gr. 01 à 0 gr. 03 d'hirudine que s'il n'a pas reçu d'hirudine.

Nous avons préparé simultanément plusieurs cobayes de 200 à 300 grammes par injections sous-cutanées de 2 centimètres cubes de sérum de cheval. Après quinze à vingt jours, ces cobayes reçoivent dans la jugulaire une petite dose de sérum de cheval. L'injection préparante et l'injection déchainante sont faites les mêmes jours pour chaque lot de

cobayes. Lors de chaque expérience on divise les animaux en 3 groupes :

Le 1^{er} groupe (témoins), reçoit des doses variables de sérum de cheval : doses inférieures à la dose mortelle, doses mortelles, doses supérieures à la dose mortelle.

Le 2^e groupe de cobayes reçoit les mêmes doses de sérum de cheval additionné depuis des temps variables de 0 gr. 002 d'hirudine pour 7 centimètres cubes de sérum.

Chez les cobayes du 3^e groupe, on fait précéder l'injection de sérum d'une injection intraveineuse d'hirudine.

Au cours de chaque expérience, on vérifie sur un cobaye témoin non préparé, que le sérum de cheval n'est pas toxique par lui-même.

RÉSULTATS

Première expérience. — 5 cobayes reçoivent sous la peau 2 centimètres cubes de sérum de cheval frais ; dix-sept jours plus tard, ils reçoivent dans la jugulaire de petites doses de sérum de cheval recueilli quarante-huit heures auparavant. On injecte deux cobayes témoins : l'un reçoit $3/10$ de centimètre cube de sérum et meurt en cinq minutes avec tous les symptômes du choc anaphylactique ; l'autre reçoit $1/10$ de centimètre cube de sérum et meurt vingt minutes après l'injection, après avoir présenté de la dyspnée, des convulsions, de la toux, un abaissement de la température rectale.

Les 3 autres cobayes reçoivent 0 gr. 004 d'hirudine dans la jugulaire quatre heures avant l'injection de sérum ; l'un reçoit $3/10$ de centimètre cube de sérum ; il meurt vingt-cinq minutes après cette injection avec les mêmes symptômes que le témoin ayant reçu $1/10$ de centimètre cube de sérum. Un deuxième cobaye reçoit $1/10$ de centimètre cube de sérum ; il présente une forte réaction mais est parfaitement rétabli après trois heures. Le troisième cobaye reçoit $4/10$ de centimètre cube de sérum ; il meurt une heure après cette injection avec les mêmes symptômes que le cobaye ayant reçu $1/10$ de centimètre cube de sérum (tableau 10).

TABLEAU X

N° du cobaye	Dose de sérum de cheval	Dose d'hirudine	Temps écoulé entre l'injection d'hirudine et l'inj. de sérum	Réactions
9 bis	$1/10$ de cm ³	0 (témoin)	0	mort en 20 min.
12 —	$1/10$ —	0 gr. 004	4 heures	forte
10 —	$3/10$ —	0 (témoin)	0	mort en 5 min.
11 —	$3/10$ —	0 gr. 004	4 heures	mort en 25 min.
13 —	$4/10$ —	0 gr. 004	4 heures	mort en 1 heure

Deuxième expérience. — Dix-huit cobayes reçoivent 2 centimètres cubes de sérum de cheval frais en injection sous cutanée. Quinze jours après, on leur injecte dans la jugulaire de petites doses de sérum de cheval recueilli trente-six heures auparavant :

a) Six cobayes témoins reçoivent des doses variables de sérum de cheval.

Deux reçoivent $3/10$ de centimètre cube : l'un meurt en quatre minutes, l'autre en huit minutes avec tous les symptômes du choc anaphylactique.

Deux reçoivent $2/10$ de centimètre cube : l'un meurt en dix minutes, comme les précédents. L'autre présente des convulsions, de la dyspnée, une chute thermique et meurt deux heures après l'injection.

Deux reçoivent $1/10$ de centimètre cube : l'un meurt en dix-huit minutes, avec les mêmes symptômes que le précédent, l'autre présente une forte résation, puis se rétablit en moins de deux heures.

b) Cinq cobayes reçoivent 0 gr. 004 d'hirudine, quatre heures environ avant l'injection de sérum : Deux reçoivent $3/10$ de centimètre cube de sérum, l'un meurt deux heures et demie après l'injection comme le témoin ayant reçu $2/10$ de centimètre cube ; l'autre présente une forte réaction puis se rétablit en deux heures.

Deux autres cobayes reçoivent $2/10$ de centimètre cube de sérum ; ils meurent en dix minutes avec les symptômes du choc anaphylactique.

Un cobaye reçoit $35/100$ de centimètres cubes de sérum ; il présente une forte réaction mais est parfaitement rétabli deux heures après l'injection.

c) Six autres cobayes reçoivent du sérum additionné d'hirudine (0 gr. 004 pour 7 cmc), quatre heures environ auparavant.

Deux reçoivent $3/10$ de centimètre cube de sérum ;

l'un meurt en quinze minutes, l'autre présente une forte réaction puis se rétablit

Deux reçoivent 2/10 de centimètre cube de sérum; l'un meurt en vingt minutes, l'autre présente une réaction légère ; il est rétabli une heure après l'injection.

Deux reçoivent un 1/10 de centimètre cube de sérum : l'un présente une réaction légère, chez l'autre la réaction est nulle.

d) Enfin un cobaye ayant reçu quatre heures auparavant, 0 gr. 004 d'hirudine dans la jugulaire, reçoit 3/10 de centimètre cube de sérum additionné d'hirudine depuis trois heures ; il meurt en cinq minutes (tableau XI).

TABLEAU XI

N° du cobaye	Dose et nature du sérum	Dose d'hirudine préalablement injectée	Laps de temps écoulé entre l'injection d'hirudine et l'injection de sérum	Réactions
21 bis	3/10 cm ³ de sérum	0-(témoin)	0	mort en 6 min.
23 —	3/10 — —	0-(témoin)	0	mort en 4 min.
26 —	3/10 — —	0 gr. 004	4 heures	mort en 2 h. 1/2
27 —	3/10 — —	0 gr. 004	4 —	forte
28 —	35/100 cm ³ de sérum	0 gr. 004	4 —	très violente
32 —	3/10 cm ³ de sérum hirudiné	0	4 —	mort en 15 min
33 —	3/10 — — —	0	4 —	très violente
31 —	3/10 — — —	0 gr. 004	4 —	mort en 5 min.
20 —	2/10 — sérum	0-(témoin)	4 —	mort en 2 h.
25 —	2/10 — —	0-(témoin)	4 —	mort en 10 min
29 —	2/10 — —	0 gr. 004	4 —	—
30 —	2/10 — —	0 gr. 004	4 —	—
34 —	2/10 — — hirudiné	0	0	légère
35 —	2/10 — — —	0	0	mort en 20 min
22 —	1/10 — sérum	0-(témoin)	0	mort en 18 min
24 —	1/10 — —	0-(témoin)	0	forte
36 —	1/10 — — hirudiné	0	0	légère
37 —	1/10 — — —	0	0	nulle

Troisième expérience. — Trois cobayes sont préparés par une injection sous cutanée de sérum de cheval vieilli. Seize jours plus tard ils reçoivent par voie intraveineuse 2 centimètres cubes de sérum de cheval vieilli. Le témoin présente une réaction très violente ; un cobaye reçoit la même dose de sérum additionné une heure et demie auparavant de 0 gr. 004 d'hirudine pour 7 centimètres cube de sérum ; il meurt en quatre minutes avec tous les symptômes du choc anaphylactique.

Le troisième reçoit 0 gr. 004 d'hirudine cinq minutes avant l'injection de sérum ; il meurt en trois minutes (tableau XII).

TABLEAU XII

N° du cobaye	Nature et dose du sérum	Dose d'hirudine injectée	Temps séparant l'inject. d'hirudine de l'injection de sérum	Réactions
43	2 ^{cm} ³ de sérum	0 (témoin)	»	très violente
45	2 ^{cm} ³ sérum hirudiné 1 h. 1/2 auparavant	0	»	mort en 4 minutes
44	2 ^{cm} ³ de sérum	0 gr. 004	5 minutes	mort en 3 minutes

Quatrième expérience. — Trois cobayes sont préparés par une injection sous-cutanée de sérum de cheval vieilli. Dix-sept jours plus tard, ils reçoivent un demi-centimètre cube de sérum de cheval vieilli.

Le témoin meurt une heure plus tard après avoir présenté des convulsions, de la dyspnée, une chute thermique.

Un cobaye reçoit 0 gr. 002 d'hirudine cinq minutes avant l'injection de sérum ; il meurt en cinq minutes avec les symptômes du choc anaphylactique.

Un cobaye reçoit la même dose de sérum additionné d'hirudine deux heures et demi avant l'injection. Il meurt en trois minutes (tableau 13).

TABLEAU XIII

N° du cobaye	Dose et nature du sérum	Dose d'hirudine injectée	Temps écoulé entre l'injection d'hirudine et l'injection de sérum	Réactions
47	1/2 ^{cm3} sérum	0 (témoin)	»	mort en 1 heure
41	1/2 — —	0 gr. 002	5 minutes	mort en 5 minutes
46	1/2 — — hirudiné 1 h. 1/2 auparavant	0	»	»

De ces diverses expériences, il semble résulter que si l'on emploie pour l'injection déchaînant des doses fortement supérieures à la dose mortelle, l'hirudine ne sert *in vitro*, ni *in vivo*, à atténuer les accidents du choc anaphylactique.

Au contraire, si l'on injecte exactement la dose

minima de sérum toujours mortelle pour les témoins (3/10 de centimètre cube dans nos expériences) les accidents sont atténués si le sérum a été additionné d'hirudine quatre heures auparavant ; ou si une injection intraveineuse de 0 gr. 004 d'hirudine précède de quatre heures l'injection du sérum ; en faisant agir de la sorte *in vitro* ou *in vivo* l'hirudine, le cobaye semble même supporter mieux que les témoins des doses légèrement supérieures à cette dose mortelle : (cobaye 28 bis et 13 bis).

Si l'on injecte des doses inférieures à cette dose mortelle il semble de même y avoir le plus souvent une atténuation notable des phénomènes anaphylactiques, par action préalable de l'hirudine *in vitro* ou *in vivo*. Toutefois, cette atténuation est inconstante et si nous l'avons toujours observée en injectant 1/10 de centimètre cube de sérum, elle a souvent fait défaut lorsque nous avons injecté 2/10 de centimètre cube.

Enfin, si l'on associe l'action de l'hirudine *in vitro* et *in vivo*, l'atténuation des accidents toxiques ne semble nullement accrue (cobaye 31 bis).

CONCLUSIONS

1° L'addition d'hirudine à du sérum traité par l'agar selon la méthode de Bordet, atténue constamment et fortement les effets nocifs de l'injection intraveineuse de ce sérum à un cobaye neuf de 200 à 300 grammes si l'hirudine est dissoute dans le sérum *après* traitement de celui-ci par l'agar, centrifugation et séparément de l'agar.

2° Lorsque la dissolution de l'hirudine dans le sérum a lieu *avant* le traitement par l'agar, l'atténuation des effets nocifs de l'injection intraveineuse est constante et forte si la dissolution de l'hirudine dans le sérum précède de trois à vingt-cinq heures l'injection intraveineuse. Elle est exceptionnelle si la dissolution de l'hirudine dans le sérum précède seulement de cinq à soixante minutes l'injection intraveineuse.

3° L'injection de plasma hirudiné traité par l'agar ne provoque chez le cobaye qu'un très léger malaise ; le plasma oxalaté traité par l'agar entraîne au contraire le plus souvent la mort du cobaye avec tous les symptômes du choc anaphylactique, ou du moins des accidents très graves.

4° L'injection intraveineuse de 0 gr. 002 ou

0 gr. 004 d'hirudine atténue fortement, chez le cobaye, les effets toxiques du sérum traité par l'agar s'il s'écoule entre l'injection de l'hirudine et l'injection du sérum un laps de temps compris entre une demi-heure et vingt-huit heures.

S'il s'écoule seulement cinq à soixante minutes entre l'injection d'hirudine et l'injection de sérum, l'atténuation des effets toxiques est au contraire rare.

5° L'injection intraveineuse de doses plus élevées d'hirudine (0 gr. 01, 0 gr. 02, 0 gr. 03) est souvent toxique pour le cobaye ; la mort survient au bout de trois à cinq heures et ne succède pas à des accidents anaphylactiques.

6° L'hirudine semble atténuer *in vitro* et *in vivo* les accidents anaphylactiques causés par l'injection intraveineuse de sérum de cheval chez des cobayes préalablement préparés : cette atténuation ne se produit toutefois, que si lors de l'injection déchaînant on emploie la dose minima de sérum toujours mortelle pour les témoins, ou une dose légèrement inférieure. Mais si l'on injecte des doses notablement supérieures à la dose mortelle, l'hirudine n'atténue nullement les accidents du choc anaphylactique.

Vu : le Président de la thèse,

CHAUFFARD

Vu : Le Doyen,

ROGER

Vu et permis d'imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris

P. APPELL

BIBLIOGRAPHIE

1. *Besredka*. — Anaphylaxie et anaphylatoxine (Annales de l'Institut Pasteur, mai 1920).
2. *Bordet*. — Le Mécanisme de l'anaphylaxie (Compt. rend. Soc. Biologie, 1913, 74, p. 225).
3. — Gélose et anaphylatoxine (Compt. rend. Soc. Biologie, 1913 74, p. 877).
4. — Qu'est-ce que l'anaphylaxie (Annales et Bulletin de la Soc. Royale des Sciences Méd. et Nat. Bruxelles. 1913, 71, p. 25).
5. — Traité de l'Immunité dans les maladies infectieuses.
6. *Bordet et Zunz*. — Production d'anaphylatoxine dans le sérum traité par l'agar épuré de son azote (pararabine) (Z. fur Immunitätsforsch, 1914-1915, XXIII, 42).
7. — Le Sérum traité par l'agar épuré de son azote se protéolyse-t-il ? (Z. fur Immunitätsforsch, 5 septembre 1914).
8. *Bordet et Delange*. — Intervention des plaquettes sanguines dans la coagulation (Bull. Académie Royale de Belgique, 4^e série, XXV, 1911, n^{os} 6-7).
9. *De Kruif et Novy*. — Anaphylatoxin and anaphylaxie (J. of the american medical association, May 1917, L. x, VIII, p. 1524).
10. — Anaphylatoxin and anaphylaxis (J. of injections diseases, vol. 20, n^{os} 5 and 6, May and June, 1917, p. 499).
11. *De Waele*. — Intoxication immédiate et intoxication différée avec les extraits d'organes et avec les toxines, 1912 (Zeitschrift f. Immunitätsforsch, XV, p. 200).

12. — L'anaphylaxie est un phénomène à la fois humoral et cellulaire (*Zeitschrift f. Immunitätsforsch*, XV, 1912, p. 193).
13. — Sur les rapports entre la coagulation du sang et la pression sanguine dans l'anaphylaxie (*Zeitsch. f. Immunitätsf.*, XVI, 1913, p. 318).
14. — L'action thromboplastique est générale et commune à toutes les substances introduites dans le sang (*Zeitsch. f. Immunitätsf.*, XVI, 1913, p. 314).
15. — Les fonctions thromboplastiques et antithrombiques dans leurs rapports avec les agglutinines, précipitines, hémolysines (*Zeitsch. f. Immunitätsf.*, XVIII, 1913, p. 430).
16. — Sur l'intervention prépondérante du nerf vague dans les symptômes circulatoires et respiratoires du choc anaphylactique) *Bulletin de l'Académie Royale de Belgique*, XXIX, n° 3, 26 avril 1919).
17. — Choc retardé ou anaphylaxie à bref délai et considérations sur les accidents sériques chez l'homme (*Bulletin de l'Académie Royale de Belgique*, 1920).
18. *Doerret Moldevan.* — Wirkungen eiweissfäblender Kolloïdlösungen anf warmblütige Tiere, und ihre Beziehungen zu anaphylaktischen Prozessen. *Biochemische Zeitschrift*, 41, 1912, p. 27.
19. *Loewit.* — Anaphylaxie studien in *Arch. f. Experiment. pathol. und Pharmakol*, tomes 65, 68, 73, 77, 1911-1914.
20. *Loewit et Bayer.* — Die Abspaltung von Anaphylatoxin aus agar nach Bordet (*Arch. exp. path. und Pharm.*, 1913, 74, p. 478).
21. *Nois.* — De l'anaphylaxie (*Archiv. internat. de Phys.*, t. 10, 1910).
22. *Zunz.* — Contribution à l'étude des effets de l'injection intraveineuse de sérum traité par l'agar ou la pararabine chez les cobayes neufs (*Journal de Phys. et Pathol. générale*, juillet-août 1917).
23. *Zunz et Gelat.* — The effects of serum treated with agar

(J. of exp. Medicine, XXIV, n° 3, p. 247 septembre 1916).

24. *Zunz et Mohilowitch*. — Effets du sérum traité par la pararabine (J. of exp. Medicine, février 1917, XXV, n° 2, p. 211).

